

## DiD 细胞膜染料

## 产品描述

DiD, DiO, DiI, DiR 和 DiS 染料是一族亲脂性的荧光染料, 可以用来染细胞膜和其它脂溶性生物结构。当与细胞膜结合后其荧光强度大大增强, 这类染料有着很高的淬灭常数和激发态寿命。一旦对细胞染色, 这类染料在整个细胞膜上扩散, 最佳浓度时可以使整个细胞膜染色。它们的荧光颜色区分明显: DiI (橙色荧光), DiO (绿色荧光), DiD (红色荧光) 和 DiR (深红色荧光) 这使得他们可以用来对活细胞进行多色成像和流式分析。DiI 和 DiO 可以分别用标准的 FITC 和 TRITC 的滤光片。DiD 可以用 633 nm He-Ne 激光器激发, 有着比 DiI 更长的激发波长和发射波长, 在细胞和组织染色中更有价值。DiR 的红外荧光可以穿透细胞和组织, 在活体成像中用来示踪。

目录号	产品名称	规格	分子量	Ex/Em	推荐滤光器*
<b>DiD</b>					
HY22031	DiD iodide	25mg	959.91	644/663 nm	XF47-Omega, 31023-Chroma

## 使用方法

## 1. DiD, DiO, DiI, DiR 和 DiS 细胞膜染色液制备

(1) 配置 DMSO 或 EtOH 储存液: 储存液用 DMSO 或 EtOH 配置浓度 1~5 mM。

注意: 未使用的储存液保存在 -20° C, 避免反复冻融。

(2) 工作液制备: 用合适的缓冲液 (如: 无血清培养基, HBSS 或 PBS) 稀释储存液, 配制浓度为 1~5  $\mu$ M 的工作液。

注意: 工作液的最终浓度是根据不同细胞和实验的经验来配制。可以从推荐浓度的十倍以上寻找最佳条件。

## 2. 悬浮细胞染色

(1) 悬浮细胞密度为  $1 \times 10^6$ /mL 加入到工作液中。

(2) 在 37 °C 培养细胞 2~20 分钟, 不同的细胞最佳培养时间不同。

(3) 染色细胞试管在 1000~1500 转离心 5 分钟。

(4) 倾倒上清液, 再次缓慢加入预温 37°C 的培养液。

(5) 重复 (3), (4) 步骤两次以上。

### 3. 粘壁细胞的染色

(1) 使粘壁的细胞在无菌实验室培养。

(2) 从培养基中移走盖玻片, 吸走过量培养液, 将盖玻片放在潮湿的环境中。

(3) 在盖玻片的一角加入 100  $\mu$ L 的染料工作液, 轻轻晃动使染料均匀覆盖所有细胞。

(4) 在 37  $^{\circ}$ C 培养细胞 2~20 分钟, 不同的细胞最佳培养时间不同。

(5) 吸干染料工作液, 用培养液洗盖玻片 2~3 次, 每次用预温的培养基覆盖所有细胞, 培养 5~10 分钟, 然后吸干培养基。

### 4. 显微镜检测

(1) DiD, DiO, DiI, DiR 和 DiS 滤光器的选择参见表 1。

(2) 多色染料的同时检测, 滤光器按照以下设定:

a) DiI 和 DiO= $\Omega$ mega XF52, Chroma 51004;

b) DiI 和 DiD= $\Omega$ mega XF92, Chroma 51007;

c) DiI, DiO 和 DiD= $\Omega$ mega XF93, Chroma 61005

### 5. 流式细胞仪的检测

DiD, DiO, DiI, DiR 和 DiS 染色的细胞可以分别用经典的 FL1, FL2, FL3 和 FL4 流式细胞仪检测。

储存条件:  $-20^{\circ}$ C 干燥避光保存, 有效期一年。

特别提醒:

1) 本公司所有产品仅限于专业人员用于生命科学研究, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅。

2) 本公司所有产品必须由合格专业技术人员操作同时佩戴口罩/手套/实验服并遵守生物实验室安全操作规程!